Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Prof: Dr. med. R.-E. Bader
Abteilung für medizinische Virologie und Epidemiologie
der Viruskrankheiten
Abteilungsleiter: Prof: Dr. med. H.-J. Gerth

Untersuchungen über die Auswirkung einer Influenza-A-Lungeninfektion auf die Coli-Pyelonephritis bei der Maus.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

verlegt von
Ehrtraut Gisela Kilgus
aus Schramberg
1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536520_0016

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Prof: Dr. med. R.-E. Bader
Abteilung für medizinische Virologie und Epidemiologie
der Viruskrankheiten
Abteilungsleiter: Prof: Dr. med. H.-J. Gerth

Untersuchungen über die Auswirkung einer Influenza-A-Lungeninfektion auf die Coli-Pyelonephritis bei der Maus.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

verlegt von
Ehrtraut Gisela Kilgus
aus Schramberg
1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. med. H.-J. Mallach

Berichterstatter: Professor Dr. med. H.-J. Gerth

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung S 1

1.1 Viral-bakterielle Doppelinfektion der Lungen
1.2 Viren und Niere
1.3 Viral-bakterielle Doppelinfektion der Nieren
1.4 Experimenteller Weg zu einer räumlich gut getrennten, viral-bakteriellen Doppelinfektion
1.5 Fragestellung S 4

2. Material S 5

2.1 Mäuse
2.2 Bakterien
2.3 Viren
2.4 Werkzeug zur bakteriellen Infizierung und bakteriologischen Untersuchung S 5

2.41 Katheter und Klemme
2.42 Bakterielles Inokulum
2.43 Nährböden
2.44 Semiquantitative Bestimmung der Keimzahl
2.45 Resistenztest

2.5 Virussuspension zur Infektion und Infektionsbeurteilung nach dem Lungenbefund S 9

2.51 Titerbestimmung der Viren
2.52 Impfvirus
2.53 Beurteilung der Lungen

3. Methode S 1o

3.1 Gruppeneinteilung
3.2 Östradiolvorbehandlung und Aussonderung kranker Tiere
3.3 Infektion der Mäuse S 11

3.31 Infektion mit E. coli
3.32 Semiquantitative Keimzahlbestimmung als Indikator der Harnwegsinfektion
3.33 Infektion mit Influenza-A-Viren

3.4 Verarbeitung der getöteten Tiere

4. Ergebnisse S 14

4.1 Übersicht über die Milzgewichte der Tiere der Gruppe 5 (Östradiol-Leerkatheter-PBS)
4.2 Übersicht über die Ergebnisse der am 4.Tag nach der WSN-Infektion getöteten Mäuse der Gruppe 1 (Coli-WSN) und 2 (Coli)
4.3 Übersicht über die Ergebnisse der am 7.Tag nach der WSN-Injektion getöteten Mäuse der Gruppe 1 (Coli-WSN) und 2 (Coli)
4.4 Übersicht über die Ergebnisse der am 11.Tag nach der WSN-Infektion getöteten Mäuse der Gruppen 1 (Coli-WSN) und 2 (Coli)
4.5 Übersicht über die numerischen Ergebnisse der Gruppen 3 (Östradiol-WSN) und 4 (WSN)

4.6 Zur Wirkung des Östradiols
4.61 Infektanfälligkeit der Mäuse durch Östradiol
4.62 Einfluß des Östradiols auf die Virusinfektion.
4.7 Vergleich der Gruppen 1 (Coli-WSN) und 2 (Coli) S 19
Todesrate, Nierenabszesse. Urinkeimzahlen
4.8 Keimzahlen im Nierengewebe S 23
4.81 Keimzahlen pro Gramm Niere bei der Gruppe 2 (Coli).
4.82 Keimzahlen pro Gramm Niere bei der Gruppe 1 (Coli-WSN) in Korrelation zum Lungenbefund.
4.9 Milzgewicht S 24
4.91 Korrelation zum zeitlichen Abstand von der WSN-Infektion
4.92 Korrelation zu den Keimzahlen in der Niere
4.93 Korrelation zum Lungenbefund

5. Diskussion S 29

5.1 Zur Frage des Östradioleinflusses und der Auswirkung der Methode
5.2 Hat die Doppelinfektion die Sterberate erhöht ?
5.3 Korreliert die Bakterienzahl im Urin mit dem Grad der Pyelonephritis ?
5.4 Zur Entwicklung der E.coli-Infektion S 3o
5.5 Läßt sich eine Aussage über den Grad der WSN-Infektion machen ? S 31
5.6 Zur Chance des Zusammentreffens von Viren und Bakterien S 33
5.7 Zum Versuchsergebnis bei der Doppelinfektionsgruppe S 34
5.71 Lokale Depression der Resistenz in den Lungen
5.72 Bahnung der Pyelonephritis durch die Influenza-Pneumonie ?
5.73 Einfluß auf Makrophagen ?

6. Zusammenfassung S 37

7. Literaturverzeichnis S 4o

1 Einleitung

1.1 Viral-bakterielle Doppelinfektion der Lungen

Seit langem sind die verheerenden Folgen einer bakteriellen Superinfektion einer Influenzapneumonie bekannt. Zahlreiche experimentelle Untersuchungen sind zur Klärung des Problems gemacht worden. Wilson und Mitarbeiter (1947) beschrieben den hemmenden Effekt von Influenza-A-Viren auf die Phagozytose. Sie infizierten Affen simultan intranasal mit hämolysierenden Streptokokken und Influenza-A-Viren und maßen die Phagozytosetätigkeit an der Anzahl der in polymorphkernigen, neutrophilen Leukozyten gefundenen Bakterien. Gerone et al. (1957) verabreichten Mäusen Influenza-A-Viren (Stamm PR8/34) in Aerosolform und 6 Tage später auf dieselbe Weise Pneumokokken (Typ 1 Bailey). Die Mortalität erreichte nach 3 Tagen ihren Höhepunkt. Die Titration ergab keinen signifikanten Unterschied der Viruskonzentrationen in den Lungen der Vergleichsgruppen Viren + Bakterien : Viren, jedoch stieg die Bakterienzahl (Koloniezählung) nach 48 Stunden an, wenn man die Gruppen Viren + Bakterien : Bakterien verglich. Außerdem fanden sie ein Ausbleiben des Anstiegs der Influenza-Antikörper im Mausserum und eine Bakteriämie nach einem Tag bei der Doppelinfektionsgruppe. Nach diesen Ergebnissen wurde vermutet, daß die durch die Viren verursachten Lungenläsionen für den Anstieg der Mortalität verantwortlich seien. In den Versuchen von Sellers et al. (1961) wurde in unterschiedlichen Zeitabständen nach einer Influenza-Infektion (A/Japan/305/57 intranasal) eine Superinfektion mit Staphylococcus aureus gesetzt und die Ergebnisse durch Virustitration, Mikroskopie und Zählen züchtbarer Staphylokokkeneinheiten kontrolliert. Es fand sich bei der unkomplizierten Virus-Infektion nach 24 Stunden ein Höhepunkt in der Viruskonzentration und keine großen Lungenläsionen, jedoch eine eitrige Entzündung der Lungen bei Doppelinfektion, bei der endogene Erreger stark beteiligt waren.

Die Staphylokokken waren noch nach 14 Tagen nach der Virusinfektion aus den Lungen züchtbar. Verabreichte man aber den Tieren die Bakterien intravenös, so konnte weder ein Einfluß auf den Verlauf der Viruspneumonie, noch auf untersuchte Organe wie Nieren oder Milz festgestellt werden. Auch Sellers machte die lokale Depression der Resistenz für den Verlauf der pulmonalen Superinfektion verantwortlich. Mulder und Hers (1972) sagen, es sei sicher, daß bei einer Influenza-Infektion allein keine Lyse der Basalmembran eintrete. Sie beobachteten bei der Untersuchung menschlicher Lungen folgendes: Die Schleimproduktion verringerte sich, im dünner werdenden Epithel traten Vakuolen auf, die basale Zellschicht wurde angegriffen, es fand sich Nekrobiosis und Desquamation, ein Ödem und Zellinfiltration - hauptsächlich durch Lymphozyten und Plasmazellen - der Tunica propria und der Submukosa des Bronchialbaums. Nur bei bakterieller Sekundärinfektion, z.B. durch Staph. aureus, war die Basalmembran zerstört, die befallenen Zellen wurden total nekrotisch und zeigten Karyolyse.
Wie oben dargelegt, sprechen die meisten Untersuchungsergebnisse dafür, daß für die bakterielle Superinfektion der Lunge hauptsächlich eine lokale Resistenzminderung verantwortlich ist. Da Influenza-Infektionen mit schweren Allgemeinreaktionen einhergehen können, ergibt sich die Frage, wie die Folgen aussähen, wenn man versuchte, das günstige Milieu, die vorgeschädigten Epithelien, für eine bakterielle Infektion zu vermeiden, also die beiden Erreger möglichst gut räumlich zu trennen.

1.2 Viren und Niere

Bei den vielen viralen Erkrankungen ist das Symptom der Virurie bekannt (z.B. Gresser (1960) Masern, Utz (1964) Mumps, u.a.m.). Bei einigen in ihrer Ätiologie noch unbekannten Nierenerkrankungen werden immer wieder Viren als mögliche Ursache diskutiert. Mikroskopische Läsionen der Nieren wurden gefunden bei Infektionen mit Coxsackie-,

Echo- und Mumps-Viren (Smith und Apuino 1971).
Auf der Suche nach viralen Vorkrankheiten bei kindlichen Harnwegsinfektionen verglichen Olbing et al. (1973) in einer klinischen Studie die Antikörpertiter gegen verschiedene Viren bei Kindern. In die Untersuchung wurden einbezogen Kinder mit akuter Harnwegsinfektion, mit chronisch rezidivierender Harnwegsinfektion mit bzw. ohne akutem Schub, und als Vergleichsgruppen Gesunde und Kinder mit einer akuten bakteriellen oder viralen Infektion außerhalb des Harntrakts. Im Kollektiv ergab sich ein signifikanter Unterschied der Antikörperspiegel gegen Echo-Viren-Mischantigen bei Patienten mit akuten, bakteriellen Infektionen innerhalb oder außerhalb des Harntrakts im Vergleich mit den anderen Gruppen. Keinerlei Unterschiede zwischen Kranken und Gesunden fand man bei den Antikörpern gegen Mumps-, Influenza-A_2-, Parainfluenza-2-3-, Coxsackie-B- und Polio-Viren.

1.3 Viral-bakterielle Doppelinfektion der Nieren

Ginder (1964) verabreichte Labormäusen Adenoviren (F1-Stamm) intraperitoneal und infizierte sie dann in unterschiedlichen Zeitabständen intravenös oder intraurethral mit Escherichia coli. Die Nieren der Tiere wurden bakteriologisch, virologisch und histologisch untersucht und dabei festgestellt, daß durch die Viren das Entstehen einer Pyelonephritis begünstigt wurde. Man fand durch die Viren induzierte tubuläre Nekrosen und Dilatation der Tubuli, jedoch keine glomerulären Veränderungen. Burch et al.(1969) demonstrierten bei 1o4 Routine-Autopsien auf dem Wege der Immunfluoreszenz Coxsackie-B-Antigen in 11 Nieren, davon hatten 8 histologische Zeichen einer Pyelonephritis.

1.4 Experimenteller Weg zu einer räumlich gut getrennten viral-bakteriellen Doppelinfektion

Eine virusbedingte Pneumonie bei Labortieren zu erzeugen, bereitet keine Probleme. Die Induktion eines bakteriellen Harnwegsinfekts, der im Körper des Versuchstieres räumlich gut von der Lungenentzündung getrennt ist, stieß jedoch im Experiment lange Zeit auf erhebliche Schwierigkeiten. Commichau et al. (1972) fanden, ausgehend von der Beobachtung der hohen Pyelonephritisfrequenz bei Frauen in der Gravidität, den Weg einer hormonal gebahnten, nicht obstruktiven, experimentellen Coli-Pyelonephritis in Versuchen mit Ratten. Als es Blum (1976) im Hygiene-Institut der Universität Tübingen gelang, diese Versuche auf Mäuse zu übertragen, stand der Weg für eine räumlich weitgehend getrennte bakteriell-virale Doppelinfektion offen.

1.5 Fragestellung

Die Frage der Arbeit lautet: Beeinflußt eine Influenza-Virus-Pneumonie eine bakterielle Pyelonephritis und wenn ja, in welcher Weise ?

In den im Folgenden beschriebenen Versuchen wurden mit Östradiol vorbehandelte weibliche Mäuse transurethral mit E.coli und zwei Wochen später transnasal mit Influenza-A-Viren infiziert. In festgelegten Zeitabständen nach der Virusinfektion wurden Urinproben und zum Schluß des Versuchs die Nieren der getöteten Tiere semiquantitativ auf E.coli untersucht.

2. Material

2.1 Mäuse

Als Versuchstiere dienten weiße, weibliche Mäuse vom Stamm NMRI aus der Zucht des Hygiene-Instituts der Universität Tübingen und der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere. Bei Versuchsbeginn waren sie 8-1o Wochen alt. Jüngere Tiere eignen sich nicht für die angewandte Methode der transurethralen Infektion, ältere Tiere erwiesen sich als sehr widerstandsfähig gegenüber dem verwendeten Stamm von Escherichia coli. Ein Käfig war mit höchstens 5 Mäusen besetzt.

2.2 Bakterien

Als Erreger der Pyelonphritis bot sich der Escherichia coli-Stamm U 714/68 an, da bereits Erfahrungen hinsichtlich der aszendierenden Infektion hiermit vorlagen. Der Keim wurde 1968 im Hygiene-Institut der Universität Tübingen aus Katheterurin isoliert. Er hatte bei einer Patientin der Frauenklinik eine Pyelonephritis verursacht.

2.3 Viren

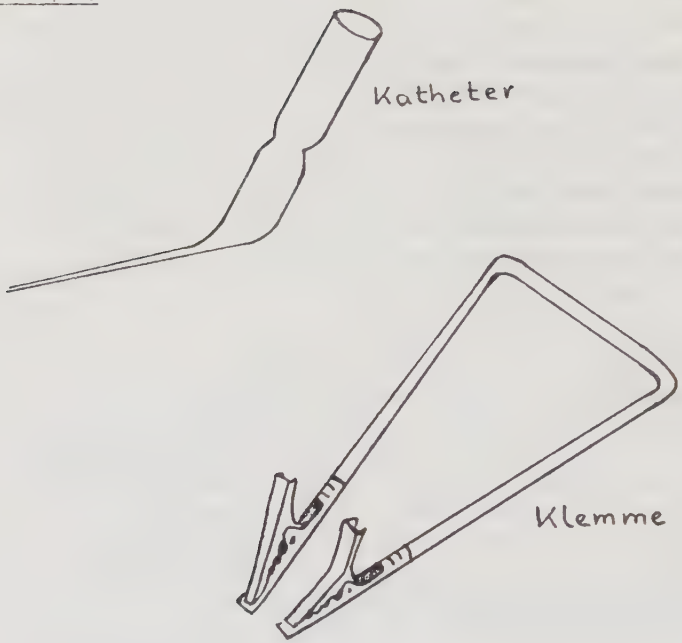
Alle Untersuchungen wurden mit dem Stamm Influenza A/WSN/34 (HO N1) aus der Stammsammlung der Abteilung für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten am Hygiene-Institut der Universität Tübingen gemacht.

2.4 Werkzeug zur bakteriellen Infizierung und bakteriologische Untersuchung

2.41 Katheter und Klemme (Zeichnung 1)

Als Katheter dienten fein ausgezogene Pasteurpipetten. Das Pipettenglas wurde über einem Bunsenbrenner in der Mitte erhitzt und beide Enden rasch in entsprechender Abwinklung auseinandergezogen. Nach dem Erkalten wurde der dünne Teil in einer Länge von etwa 4 cm abgebrochen und die scharfen Ränder abgeschmolzen.

Zeichnung 1



2.42 Bakterielles Inokulum

Durch häufiges Überimpfen der Bakterien auf Blutagarplatten erhielt ich bis zum Tag der Infektion der Mäuse junge, in ihrem Stoffwechsel sehr aktive Zellen. Als Inokulum diente eine Bakteriensuspension nach 6-stündiger Bebrütung bei 37° C. Diese enthält etwa 10^8 Keime/ml.

2.43 Nährboden

Auf Blutagarplatten erfolgte die Züchtung der E.coli Bakterien bei der Vorbereitung der zur Infektion dienenden Bakteriensuspension, bei der Keimzählung und dem Resistenztest:

2/3 (35g/1) Mueller Hinton Agar Grundsubstrat(Oxoid/Wesel)
(Code CM 337)
1/3 D.S.T. Agar (Oxoid/Wesel, Code CM261)
5% defibriniertes Hammelblut

Die Bouillon für die Bakteriensuspension enthielt
25g/1 Nutrient Broth No.2 (Oxoid/Wesel Code CM67).

Kligler-Nährböden der Modifikation 2
1 ooo ml verflüssigter Kligler-Agar
D,L-Phenylalanin Nr. 7257 LAB der Fa. Merck/Darmstadt 5 g
4o ml Ferrizitrat in 1%iger wässriger Lösung
ca. 4 ml Na_2CO_3 in 1o%iger wässriger Lösung der pH-Korrektur auf 7,4
dienten zur ersten, groben Identifikation der aus dem Mäuseurin gezüchteten Keime. Der E.coli-Stamm U 714/68 verfärbt Schrägfläche und Hochschicht gelb und zeigt Gasbildung.

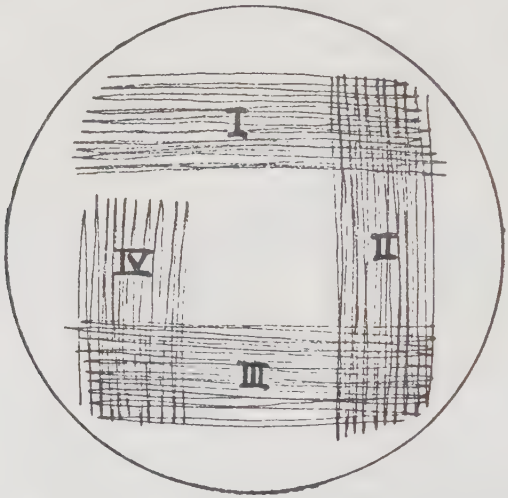
Die Reinheitskontrolle erfolgte auf Lactose-Fuchsin-Agar nach Endo:
Pro Liter Nutrient Broth Nr. 2 (Oxoid/Wesel Code CM67)
+ 1,5% Bacto-Agar (Difco Laboratories)
15g Lactose-Monohydrat (Merck/Darmstadt), gelöst in
3o ml 1o%ige Natriumsulfit-Lösung.

2.44 Semiquantitative Bestimmung der Keimzahl

Zur semiquantitativen Bestimmung der Keimzahl verwendete ich die von Hirsch (1967) beschriebene Kreuzstrichmethode (siehe Zeichnung 2): Mäuseurin wurde mit einer genormten o,o4 ml Öse auf Blutagarplatten aufgebracht und wie aus der Zeichnung 2 ersichtlich verstrichen, (jeweils 1o Striche in gleicher Richtung). Die Aussaat fraktioniert man in gleicher Weise auf die Streifen II, III und IV (Zeichnung 2).

Eine Nacht lang wurden die Agar-Platten in den Brutschrank gestellt (37° C). Wachstum auf der Fraktion III zeigt in guter Korrelation mit der Keimzählung durch die Gußplattenmethode mehr als 10^5 Erreger/ml an (Lüders 1966).

Zeichnung 2



2.45 Resistenztest

Von einer bewachsenen Bouillon wurde je ein Tropfen auf zwei Blutagarplatten mit einem Glasspatel ausgespatelt und je ein mit den nachstehenden Antibiotika beschicktes Filterpapierzahnrad aufgebracht. Nach dreistündiger Vordiffusion wurden die Agarplatten 18 Stunden lang bei 37°C bebrütet. Die entstandenen Hemmhöfe habe ich mit denen des Ursprungskeims verglichen. Der Teststamm ist gut empfindlich gegen Streptomycin (10µg), Gentamycin (20µg), Tetracyclin (32µg), Cefalotin (20µg), Polymyxin B (50µg),

Kanamcin (1o µg), Carbenicillin (3o µg) und Nalidixinsäure (3o µg), mäßig empfindlich gegen Chloramphenicol (4o µg) und Nitrofurantoin (4o µg) und resistent gegenüber Penicillin G (5o IE), Ampicillin (2o µg) und Sulfonamid (4o µg).

2.5 Virussuspension zur Infektion und Infektionsbeurteilung nach dem Lungenbefund.

2.51 Titerbestimmung der Viren

Die Titerbestimmung erfolgte nach der Plaque-Test-Methode und wurde von Mitarbeitern der Abteilung für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten des Hygiene-Instituts der Universität Tübingen durchgeführt. Lungen infizierter Mäuse wurden in einer Verdünnung von 1:1o mit Hanks'Salzlösung zermörsert, 1o Minuten bei 3ooo U/min. zentrifugiert und vom Überstand der Plaque-Test gemacht.
Der Zellrasen von Hühnerembryoblasten (in oberflächenbehandelten Polystyrol-Kulturschalen der Fa.Greiner/Nürtingen) wurde dreimal mit Hanks'Salzlösung gewaschen und anschließend mit o,2 ml der verschiedenen Virusverdünnung für 3o Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert. Nach Temperaturausgleich bei 4o° im Wasserbad wurde das Overlay-Medium zu gleichen Teilen mit dem 1,4%igen Noble-Agar in doppelt destilliertem Wasser vermischt (Babiker und Rott 1968) und der Zellrasen mit 7 ml dieser Mischung sorgfältig überschichtet. Nach Erkralten des Agars wurden die Schalen in Luft-CO_2-Gemisch (95:5) für 2-3 Tage bei 37°C inkubiert. Zum Besseren Sichtbarmachen der Plaques wurde der Zellrasen mit O,5%iger Neutralrotlösung für ca. 4 Stunden im Dunklen angefärbt.

2.52 Impfvirus

Der bei -80°C tiefgefrorene Ampulleninhalt ($4x10^7$ PFU/o,2ml) wurde aufgetaut und im Verhältnis 1:2o mit steriler PBS-Lösung verdünnt.

2.53 Beurteilung der Lungen

Die Ausdehnung der Lungenläsionen wurde geschätzt und folgendermaßen eingeteilt:

gerade erkennbare Läsion	Score 1
1/4 der Lungen hämorrhagisch verändert	Score 2
Lungen zur Hälfte befallen	Score 3
3/4 der Lungen hämorrhagisch verändert	Score 4
Lungen fast ganz hämorrhagisch, Maus gestorben	Score 5

3. Methode

3.1 Gruppeneinteilung

Von den Versuchstieren wurden folgende Gruppen gebildet:

Gruppe 1 erhielt	Östradiol + E.coli + WSN
Gruppe 2 erhielt	Östradiol + E.coli
Gruppe 3 erhielt	Östradiol + Leerkatheter + WSN
Gruppe 4 erhielt	Leerkatheter + WSN
Gruppe 5 erhielt	Östradiol + Leerkatheter + PBS

3.2 Östradiolvorbehandlung und Aussonderung kranker Tiere

Um für meine Versuche eine möglichst günstige Ausgangssituation zu erreichen, erhielten die Mäuse eine erstmalige Injektion von 100 µg Östradiol (Östradiolundecylat, Progynon-Depot® Fa. Schering/Berlin) gelöst in 0,2 ml Olivenöl in die Oberschenkelmuskulatur und weiterhin eine Erhaltungsdosis von 80 µg Östradiol einmal pro Woche.
Am Tag der dritten Östradiolgabe wurde eine Urinkontrolle der Versuchstiere durchgeführt, um diejenigen auszuschließen, die bereits krank waren. Durch leichten Druck auf die Blasengegend ließen sich einige Tropfen Urin gewinnen und in einer Petrischale auffangen.

Urin aus dem zweiten Tropfen wurde mittels einer Öse auf Blutagar ausgestrichen und eine Nacht lang bebrütet. Als Versuchstiere schieden einmal alle mit Wahrscheinlichkeit kranken Mäuse aus, insbesonders aber alle, bei denen sich schwärmende Bakterien, meist Angehörige der Gattung Proteus, fanden.

3.3 Infektion der Mäuse

3.31 Infektion mit Escherichia coli

Nach Entleerung der Blase durch leichten Druck wurden die Mäuse einzeln in ein Becherglas auf ein Stück Zellstoff gesetzt und mit 1,5 bis 2 ml Äther, der auf den Zellstoff getropft wurde, narkotisiert. Durch genaues Beobachten der Atmung und der reflektorischen Bewegungen konnte man die Tiefe der Narkose erkennen. Erst im Stadium der Toleranz, wenn alle reflektorischen Bewegungen aufgehört hatten und die Atmung gleichmäßig, schnappend und nicht zu beschleunigt war, konnte man den Katheter vorsichtig einführen. War die Narkose nicht tief genug, so verhinderten die Spannung der Muskulatur und frühzeitig einsetzende Beinbewegungen die Injektion der Coli-Bouillon in die Blase.
Die narkotisierte Maus wurde auf den Rücken gelegt, der noch mit etwas Äther getränkte Zellstoff über dem Kopf verzögerte das Aufwachen. Mittels einer Klemme wurde die Haut beidseits des Genitale der Maus erfaßt und so durch leichten Zug die Urethra fixiert, dann der Katheter eingeführt und o,2 ml der Coli-Bouillon in die Blase mit dem Mund eingeblasen. Eine Woche später erfolgte die zweite Coli-Infektion in derselben Weise.

3.32 Semiquantitative Keimzahlbestimmung als Indikator der Harnwegsinfektion

Die erste Keimzählung im Urin fand am 4., die zweite am 13. Tag nach der zweiten Injektion mit E.coli statt.
Von dem durch leichten Druck auf die Blasengegend

gewonnen Urin (2.Tropfen) wurden 0,02 ml (Blutzucker-pipette) mit physiologischer NaCl auf ein Verhältnis von 1:100 verdünnt und mit einer Normöse von 0,04 ml auf Blutagarplatten nach der Kreuzstrichmethode aufgetragen. Um die zeitliche Differenz zwischen der Urin-gewinnung und dem Überimpfen auf den Agar nicht zu groß werden zu lassen, fertigte ich jeweils einen Käfig, d.h. Gruppen zu 5 Tieren ab. Nach einer Nacht im Brutschrank konnten die gewachsenen Kolonien ausgezählt und Kligler- und Endo-Kontrollen angelegt werden.

3.33 Infektion mit Influenza-A-Viren

Am 14. Tag nach der zweiten Instillation von E.coli in die Blase folgte die Infektion mit WSN-Viren. Die Impf-lösung (3 Tropfen) wurde den nur leicht mit Äther betäubten, heftig atmenden Mäusen aus einer 16er Kanüle auf die Nase getropft. Die nicht mit WSN zu infizierenden Tiere erhielten drei Tropfen sterile PBS-Lösung.

3.4 Verarbeitung der getöteten Tiere

Ich habe drei Versuchsreihen durchgeführt. Bei den ersten beiden wurde jeweils die Hälfte der Tiere am 4. Tag nach der WSN-Infektion, die andere Hälfte am 11. Tag getötet. Die Zahlenwerte, die sich daraus ergaben, waren Anlaß dazu, die Mäuse des dritten Versuchs alle am 7. Tag mit Äther zu töten. Aus der Blase der toten Maus erhielt ich durch Punktion 0,2 ml Urin (gemessen mit einer Tuberkulinspritze). Mit einer Verdünnung von 1:10 (0,2 ml Urin in 1,8 ml phys.NaCl) wurde wieder die Kreuzstrichmethode wie bei den Urinkontrollen durchgeführt.

Eine Niere wurde herauspräpariert und gewogen und ebenso die Milz, da es in Vorversuchen aufgefallen war, daß die Größe der Milzen sehr variierte. Die von ihrer Kapsel befreite Niere wurde zermörsert und der entstandene Gewebebrei mit physiologischer NaCl-Lösung in eine Verdünnung von 1:1o gebracht. Darauf folgte die Weiterverarbeitung nach der Kreuzstrichmethode.
Nach Auszählung der Kolonien in den einzelnen Fraktionen wurde aus dem arithmetischen Mittel unter Berücksichtigung der Vorverdünnung und des Oesenvolumens die Keimzahl pro Gramm Nierengewebe berechnet.
Die Mäuselungen wurden ebenfalls herauspräpariert und die Läsionen nach der Score-Skala beurteilt.
Alle isolierten Keime, bei denen der Verdacht bestand, daß es sich um E.coli handelte, wurden zum Schluß zur genaueren Identifikation einer Resistenzbestimmung unterzogen.

Zeichenerklärung zu den Tabellen 1a - 7

Urinprobe I = 4. Tag nach der 2. Coli-Infektion; bei nicht-coli-infizierten Tieren der diesem Tag entsprechende Versuchtstag

Urinprobe II = 13.Tag nach der 2.Coli-Infektion bei nicht-coli-infizierten Tieren der diesem Tag entsprende Versuchstag

Urinprobe III = Todestag des Tieres

+7, +8, +9, +11 = das Tier ist am 7., 8., 9. oder 11.Tag nach der WSN-Infektion spontan gestorben.

A = Abszeß

oB = ohne makroskopisch pathologischen Befund

+ $\geq 10^5$ Keime / ml Urin

(+) $\leq 10^5$ Keime / ml Urin

0 = 0 Keime

4. Ergebnisse

4.1 Tabelle 1a Übersicht über die Milzgewichte der Tiere der Gruppe 5 (Östradiol-Leerkatheter-PBS)

	Maus	Milz g
Tier getötet am 4.Tag nach der WSN-Infektion der virus-infizierten Gruppe	1	o,24
	2	o,18
	3	o,3o
	4	o,24
Tier getötet am 11.Tag nach der WSN-Infektion der virus-infizierten Gruppen	1	o,23
	2	o,24
	3	o,26
	4	o,22
	5	o,24
	6	o,28

4. Ergebnisse

4.2 Tabelle 1 Übersicht über die Ergebnisse der am 4.Tag nach der WSN-Infektion (=18.Tag nach der 2.Coli-Infektion) getöteten Mäuse der Gruppe 1 (Coli-WSN)

	Keimzahl/ml Urin			Keimzahl pro g Niere	Niere g	Milz g	Lunge Score
Urinprobe	I	II	III				
Maus							
1	+	+	+	10^4	0,23	0,17	1
2	(+)	o	(+)	10^3	0,26	0,16	1
3	o	(+)	+	10^4	0,23	0,17	1
4	(+)	+	+	10^5	0,26	0,26	1
5	o	+	+	10^4	0,22	0,17	1
6	o	+	+	10^4	0,23	0,19	1
7	o	o	(+)	10^3	0,23	0,3o	1
8	o	(+)	+	10^4	0,21	0,15	1
9	(+)	+	+	10^3	0,23	0,2o	1
10	(+)	+	+	10^4	0,22	0,2o	1

Tabelle 2 Übersicht über die Ergebnisse der am 18.Tag nach der 2.Coli-Infektion getöteten Tiere der Gruppe 2 (Coli)

	Keimzahl/ml Urin			Keimzahl pro g Niere	Niere g	Milz g	Lunge Score
Urinprobe	I	II	III				
Maus							
1	+	+	+	10^4	0,3o	0,32	o.B.
2	(+)	o	(+)	10^4	0,24	0,23	o.B.
3	+	o	+	10^4	0,23	0,19	o.B.
4	+	+	+	10^3	0,29	0,31	o.B.
5	o	o	(+)	10^4	0,29	0,25	o.B.
6	+	+	+	10^3	0,27	0,24	o.B.

* Zeichenerklärung siehe Seite 14

4.3 Tabelle 3 Übersicht über die Ergebnisse der am 7.Tag nach der WSN-Infektion (=21.Tag nach der 2.Coli-Infektion) getöteten Tiere der Gruppe 1 (Coli-WSN).

	Keimzahl/ml Urin			Keimzahl pro g Niere	Niere g	Milz g	Lunge Score
Urinprobe	I	II	III				
Maus							
1	+	+	+	10^5	$0,35_A$	0,33	3
2	o	+	(+)	10^3	0,3o	0,23	1
3_{+7}	+	+	+	10^3	0,35	0,21	5
4	(+)	+	+	10^6	$0,3o_A$	0,35	4
5	+	+	+	10^3	$0,27_A$	0,23	3
6	o	o	o	10^3	0,28	0,23	4
7	+	+	+	10^5	$0,19_A$	0,12	1
8_{+7}	+	+	/	10^2	0,22	0,19	5
9	+	+	o	10^3	0,28	0,25	1
1o	(+)	+	(+)	10^3	0,24	0,16	3
11	+	+	+	10^3	0,21	0,14	4
12_{+7}	(+)	(+)	+	10^3	0,2o	0,14	5
13_{+7}	+	+	+	10^3	0,24	0,15	5
14_{+7}	+	+	+	10^3	0,23	0,11	5

Tabelle 4 Übersicht über die Ergebnisse der am 21. Tag nach der 2.Coli-Infektion getöteten Tiere der Gruppe 2 (Coli)

	Keimzahl/ml Urin			Keimzahl pro g Niere	Niere g	Milz g	Lunge Score
Urinprobe	I	II	III				
Maus							
1	(+)	+	+	10^3	0,3o	0,24	o.B.
2	+	+	+	10^3	0,25	0,23	o.B.
3	+	+	+	10^5	$0,27_A$	0,28	o.B.
4	(+)	+	+	10^3	0,32	0,26	o.B.
5	+	+	+	10^3	0,27	0,27	o.B.
6	+	+	+	10^3	0,27	0,27	o.B.
7	+	+	+	10^6	$0,57_A$	0,54	o.B.
8	o	+	+	10^5	$0,24_A$	0,37	o.B.
9	(+)	+	+	10^7	$0,55_A$	0,59	o.B.
10	(+)	+	+	10^6	$0,45_A$	0,31	o.B.

4.4 Tabelle 5 Übersicht über die Ergebnisse der am 11.Tag nach der WSN-Infektion getöteten oder vom 8.-11.Tag nach der WSN-Infektion gestorbenen Mäuse der Gruppe 1 (Coli-WSN).

Keimzahl/ml Urin				Keimzahl pro g Niere	Niere g	Milz g	Lunge Score
Urinprobe	I	II	III				
Maus							
1	+	+	+	10^3	0,31	0,29	1
2_{+11}	o	+	(+)	10^2	0,22	0,13	5
3	+	+	(+)	/	0,29	0,38	4
4	+	+	+	10^2	0,33	0,31	3
5_{+11}	+	+	+	10^4	0,19	0,15	5
6	+	+	+	10^4	0,24	0,14	4
7_{+8}	(+)	+	+	10^2	0,24	0,14	5
8_{+8}	(+)	+	+	10^4	$0,21_A$	0,14	5
9_{+9}	+	+	+	10^3	0,20	0,20	5
10_{+9}	+	+	+	10^3	0,23	0,11	5

Tabelle 6 Übersicht über die Ergebnisse der am 25. Tag nach der 2. Coli-Infektion getöteten Mäuse der Gruppe 2 (Coli).

Keimzahl/ml Urin				Keimzahl pro g Niere	Niere g	Milz g	Lunge Score
Urinprobe	I	II	III				
Maus							
1	+	+	+	10^4	0,27	0,26	o.B.
2	+	+	+	10^4	0,3o	0,39	o.B.
3	+	+	+	10^4	0,26	0,28	o.B.
4	+	+	+	10^4	0,28	0,28	o.B.
5	+	+	+	10^3	0,34	0,28	o.B.
6	+	+	+	10^5	0,32	0,25	o.B.
7	+	(+)	+	10^2	0,28	0,28	o.B.
8	+	(+)	+	10^3	0,28	0,25	o.B.

* Zeichenerklärung siehe Seite 14

4.5 Tabelle 7 Übersicht über die numerischen Ergebnisse der Gruppen 3 (Östradiol + Leerkatheter + WSN) und 4 (Leerkatheter + WSN)

Todes-tag nach WSN	Gruppe 3 Niere	Milz g	Lunge Score	Todes-tag nach WSN	Gruppe 4 Niere	Milz g	Lunge Score
4	oB	o,17	1	4	oB	o,19	1
4	oB	o,19	1	4	oB	o,17	1
4	oB	o,19	1	4	oB	o,18	1
4	oB	o,19	1	4	oB	o,2o	1
7	/	o,25	3,5	7	/	o,17	2
7	/	o,15	3,5	7	/	o,21	4
7	/	o,15	3,5	7	/	o,16	3,5
7	/	o,14	2,5	7	/	o,14	1
7	/	o,19	2	7	/	o,14	2,5
7	/	o,21	3,5	7	/	o,13	4
7	/	o,27	2,5	7	/	o,18	2
7	/	o,23	1	7	/	o,16	2,5
+7	/	o,13	5	+7	/	o,15	5
+7	oB	o,11	5				
+7	oB	o,11	5				
+8	oB	o,13	5	+6	oB	/	5
+8	oB	o,22	5	+9	oB	o,1o	5
				+9	oB	o,o9	5
11	oB	o,32	2	11	oB	o,2o	1
11	oB	o,32	3	11	oB	o,24	1,5

* Zeichenerklärung siehe Seite 14

4.6 Zur Wirkung des Östradiols

4.61 Infektanfälligkeit der Mäuse durch Östradiol

Die in den beiden ersten Versuchen mitgeführte Gruppe 5 (Östradiol + Leerkatheter + PBS) zeigte keine besonders gesteigerte Anfälligkeit gegenüber etwa mit dem Katheter in die Blase eingeschleppten Keimen. Lediglich bei einem von 10 Tieren konnten einmal Bakterien aus dem Urin gezüchtet werden. Nieren und Lungenbefunde waren unauffällig.
Das Gewicht der Milzen schwankte um einen Mittelwert von 0,24 g, mit einer Schwankungsbreite von 0,3 g bis 0,18 g.

4.62 Einfluß des Östradiols auf die Virusinfektion

Die Gruppe 3 (Östradiol + Leerkatheter + WSN) zeigte im Gegensatz zur Gruppe 4 (Leerkatheter + WSN) anfangs bei 3 Tieren positive Urinbefunde, jedoch konnten in keinem Fall Keime aus dem Nierengewebe gezüchtet werden. Bei der Gruppe 3 starben 5 von 19 Tieren am 7. oder 8. Tag nach der WSN-Infektion, bei der Gruppe 4 4 von 18 Mäusen am 6., 7. oder 9. Tag. Eine signifikante Differenz zwischen den Lungenläsionen der beiden Gruppen bestand nicht.

4.7 Vergleich der Gruppen 1 (Coli-WSN) und 2 (Coli) Todesrate, Nierenabszesse, Urinkeimzahlen (siehe auch Tabelle 8)

Wegen der zahlreichen Möglichkeiten des Ausscheidens eines Versuchstieres ist die Anzahl der verwertbaren Mäuse der Gruppe 1 und 2 leider sehr klein geblieben.
Von den 24 Tieren der Gruppe 2 erlebten alle den letzten Versuchstag, während bei der Gruppe 1 11 von 33 starben.
Die ersten Mäuse verendeten am 7. Tag nach der WSN-Infektion, weitere folgten am 8., 9. und 11.Tag.
Die Zahl der Tiere mit Nierenabszessen betrug in beiden Gruppen 5. Die Abszesse der Nieren der nicht-WSN-infizierten Mäuse waren größer, Nieren und Milzen wichen erheblich

Tabelle 8 Vergleich der Anzahl der Tiere der Gruppen 1 (Coli-WSN) und 2 (Coli), die mehr als 10^5 Keime pro ml Urin aufwiesen, in Abhängigkeit von der Versuchsdauer.

	1 Tag vor WSN	5 Tage nach WSN	7Tage nach WSN	11 Tage nach WSN
Gruppe 1 (Coli-WSN)	6 von 1o 6o%	8 von 1o 8o%		
	12 von 14 85%		9 von 14 64%	
	6 von 6 1oo%			4 von 6 66%
Gruppe 2 (Coli)	3 von 6 5o%	4 von 6 66%		
	1o von 1o 1oo%		1o von 1o 1oo%	
	6 von 8 75%			8 von 8 1oo%

mehr nach oben vom Durchschnittswert ab als bei denen der Gruppe 1. Abszesse an anderen Organen wurden nicht gefunden.
Die Keimzahlen im Urin schwanken und streuen sehr stark. Die Tabelle 8 stellt einen Vergleich der Tiere der Gruppen 1 (Coli-WSN) und 2 (Coli) dar, die mindestens 10^5 Keime pro ml Urin aufwiesen. Die Zahl der entsprechenden "kranken" Tiere der Doppelinfektionsgruppe liegt auch bei zunehmendem zeitlichen Abstand von der WSN-Infektion nicht höher als die der Gruppe 2 (Coli).

Bei den aus den Nieren gewonnen Keimzahlen spielen noch mehr Fehlerquellen eine Rolle. In einem der Vorversuche habe ich festgestellt, daß etwa 9/10 der Bakterien alleine durch die Behandlung mit dem Mörser vernichtet werden können. Ferner kann man sich leicht vorstellen, daß an einem winzigen Stückchen Nierengewebe mehrere Bakterien haften, die dann auf der Kreuzstrichplatte alle nur eine Kolonie bilden. So sind vermutlich die relativ niedrigen Keimzahlenwerte aus dem Nierengewebe zu erklären, die auch besonders bei den Abszeßnieren auffallen.

Tabelle 9a

	Keimzahlen pro Gramm Niere	
Lunge (Score)	$\geq 10^4$	$\leq 10^2$
1-2	1 von 4 25%	0 von 4 0%
Gruppe 1		
(Coli-WSN) 3	1 von 4 25%	1 von 4 25%
4	2 von 5 40%	0 von 5 0%
5	2 von 11 18%	3 von 11 27%
gesamt	6 von 24 25%	4 von 24 16%

Tabelle 9b

		$\geq 10^4$	$\leq 10^2$
	7.Tag nach d.WSN-Infekt. d. and.Gruppen	5 von 10 50%	0 von 10 0%
Gruppe 2 (Coli)	11.Tag	5 von 8 62%	1 von 8 12%
	gesamt (7.+11.Tag)	10 von 18 55%	1 von 18 5,5%

Tabelle 9a Vergleich der Keimzahlen pro Gramm Niere mit dem Lungenbefund(Score) bei den Tieren der Gruppe 1 (Coli-WSN): Die %-Angaben entsprechen der Zahl der Tiere der Gruppe 1, bei denen bei entsprechendem Lungenbefund die Keimzahl pro Gramm Nierengewebe $\geq 10^4$ bez. $\leq 10^2$ war. Die Tabelle berücksichtigt nicht die am 4.Tag nach der WSN-Infektion getöteten Tiere.

Tabelle 9b Vergleich der Anteile der Tiere mit hohen ($\geq 10^4$) und mit niedrigen ($\leq 10^2$) Keimzahlen pro Gramm Niere bei der Gruppe 2 (Coli). Die Mäuse, die am 4.Tag nach der WSN-Infektion der anderen Gruppen getötet wurden, sind nicht berücksichtigt.

4.8 Keimzahlen im Nierengewebe

4.81 Keimzahlen pro Gramm Niere bei der Gruppe 2 (Coli) (siehe auch Tabelle 9b)

Während die mit Influenza-Viren infizierten Gruppen sich gegen die Pneumonie wehren müssen, haben die Tiere der Gruppe 2 (Coli) Zeit, ihre Abwehrkräfte gegen die Harnwegsinfektion zu richten.
Wie die Tabelle 9b zeigt, ändert sich jedoch in dem Zeitraum bis zum 11. Tage nach der WSN-Infektion der anderen Gruppen bei den Keimzahlen im Nierengewebe der Tiere der Gruppe 2 (Coli) nichts. Bei etwa 5o% (1o von 18) der Mäuse treten Zahlen von 10^4 und mehr Keimen pro Gramm Niere auf. (Commichau et al. betrachteten in ihren Versuchen 1972 eine Zahl von 10^2 Keimen pro Gramm Niere als Pyelonephritis).

4.82 Keimzahlen pro Gramm Niere bei der Gruppe 1 (Coli-WSN) in Korrelation zum Lungenbefund (Score) (siehe auch Tabelle 9a)

Eine Gegenüberstellung von hohen($\geq 10^4$) und niedrigen($\leq 10^2$) Keimzahlen pro Gramm Niere und dem Lungenbefund (Score) bei den Tieren der Doppelinfektionsgruppe scheint zu zeigen, daß hier keine Zusammenhänge bestehen. Da die Lungenläsionen am 4. Tag nach der Virusinfektion noch kaum ausgeprägt waren, sind diese Mäuse in Tabelle 9a nicht berücksichtigt.

Wenn die Tabelle 9a auch wegen der zahlenmäßig zu kleinen Gruppen trügen mag, so ist doch bemerkenswert, daß selbst bei Mäusen, deren Lungen 3/4 bzw. total hämorrhagisch verändert waren, die also vermutlich ihrer Pneumonie erlegen sind, wider Erwarten der Nierenbefund nicht deutlich schlechter war, als bei Tieren mit geringeren Lungenläsionen.
Insgesamt haben nur 25% (6 von 24) der Tiere hohe Keimzahlen pro Gramm Niere, also weniger Tiere als bei der Gruppe 2 (Coli).

4.9 Milzgewicht

4.91 Korrelation zum zeitlichen Abstand von der WSN-Infektion (siehe auch Tabelle 1o und 11 und Tab. 1a S.14)

Es fiel auf, daß die Mäuse, die mit Influenza-Viren infiziert worden waren, besonders kleine Milzen hatten.
(Mittelwerte der Milzgewichte der einzelnen Gruppen siehe Tabelle 1o). Ein ungefährer "Normalwert" des Milzgewichts ergab sich bei der 5.Gruppe (Östradiol + Leerkatheter + PBS). Die Zahlen schwankten um den Mittelwert von 0,24g. Der der Tabelle 11 zugrunde liegende "Normalbereich" von 0,21-0,29g wurde willkürlich festgesetzt. Die Grenzen wurden absichtlich weiträumig abgesteckt, um das Risiko einer zufälligen Veränderung des Milzgewichts möglichst klein zu halten.
Wie die Tabelle zeigt, ergibt sich, daß bei der Gruppe 2 (Coli) die Milzgewichte meist im oder über dem "Normalbereich" liegen, während die WSN-infizierten Gruppen 3 und 4 fast alle nach unten abgesunken sind. Die Gruppe 1 (Coli-WSN) vereint beide Tendenzen mit einer Betonung der niedrigen Milzgewichte.

4.92 Korrelation zu den Keimzahlen in der Niere (siehe auch Tabelle 12)

Nach der Feststellung, daß das Milzgewicht in deutlichem Zusammenhang mit der Virusinfektion steht, versuchte ich herauszufinden, ob eine Korrelation zwischen dem Milzgewicht und dem Auftreten hoher bzw. niedriger Keimzahlen besteht.
Bei den am 4.Tag (nach WSN) getöteten Mäusen stehen mäßig hohe Keimzahlen aus den Nieren bei niedrigem Milzgewicht der Gruppe 1 (Coli-WSN) neben ähnlichen Keimzahlen bei höherem Milzgewicht der Gruppe 2 (Coli).
Das Bild ändert sich am 7. Tag: ein großer Teil der Tiere mit Doppelinfektion weist bei niedrigem Milzgewicht auch relativ niedrige Bakterienzahlen (10^3) auf, während die Vergleichsgruppe bei "normalem" oder hohem Milzgewicht mit dem Gros der Keimzahlen bei 10^3 bis 10^6 liegt.
Am 11.Tag streuen bei der Gruppe 1 (Coli-WSN) Bakterienzahlen und Milzgrößen in alle Richtungen, soweit sich das bei der geringen Anzahl der verwertbaren Tiere feststellen

Tabelle 10

Tag nach der WSN-Infektion		4		7		11	
Mittelwert des Milzgewichts in g	Gruppe 1 Mäuse (Ö-C-WSN)	lebendig n=1o	0,2og	n=9	0,22 g	S ± 0.06g	n=4	0,28g
		tot		n=5	0,16 g		n=2	0,14g
		gesamt		n=14	0,2o g		n=6	0,23g
	Gruppe 2 (Ö-C)	lebendig n=6	0,26g	n=1o	0,34 g	± 0.13g	n=8	0,28g
	Gruppe 3 (Ö-WSN)	lebendig n=4	0,18g	n=8	0,2o g	± 0.05g	n=2	0,32g
	Gruppe 4	lebendig n=4	0,18g	n=8	0,16 g	± 0.03g	n=2	0,22g
	(WSN)	tot		n=1	0,15 g			
		gesamt		n=9	0,16 g			
	Gruppe 5 (Ö)	lebendig n=4	0,24g				n=6	0,24g

Übersicht über die Mittelwerte der Milzgewichte der einzelnen Gruppen

Ö = Östradiol

C = E.coli

S = Standardabweichung

* für die Gruppen 1 und 2 sind die Ergebnisse nach dem Wilcoxon-Zwei-Stichproben-Test auf dem 0,05 % Niveau signifikant verschieden.

Tabelle 11

Tag nach WSN	4		7		11	
Milzgewicht (g)	<0,2	>0,3	<0,2	>0,3	<0,2	>0,3
Gruppe 1 (Östradiol-Coli-WSN)	8 von 10 80%	1 von 10 10%	7(4†) von 14 50%	2 von 14 14%	3(2†) von 6 50%	3 von 6 50%
Gruppe 2 (Östradiol-Coli)	1 von 6 16%	2 von 6 33%	0 von 10 0%	4 von 10 40%	0 von 8 0%	1 von 8 12%
Gruppe 3 (Östradiol-WSN)	4 von 4 100%	0 von 4 0%	7(3†) von 12 58%	0 von 12 0%	0 von 2 0%	2 von 2 100%
Gruppe 4 (WSN)	4 von 4 100%	0 von 4 0%	8(1†) von 10 80%	0 von 10 0%	1 von 2 50%	0 von 2 0%

Übersicht über das Verhalten des Milzgewichts der einzelnen Gruppen zum "Normbereich" von 0,2 bis 0,3 g: die %-Angaben entsprechen der Zahl der Mäuse die am 4., 7. oder 11. Tag nach der WSN-Infektion über bzw. unter dem willkürlich angenommenen "Normalgewicht" der Milz lagen. Alle am 7. bzw. 11. Tag spontan gestorbenen Mäuse (außer einem Tier der Gr. 1) hatten ein Milzgewicht unter 0,2 g; ihre Zahl ist mit † angegeben.

Tabelle 12

Tag des Todes nach WSN	Milz g	Gruppe 1 (Östr. + Coli + WSN) Mäuse	Keimzahl pro Gramm Niere 0	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	Gruppe 2 (Östr. + Coli) Mäuse	0	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7
4	≦0,2	n = 10				20%	60%				n = 6					17%			
	0,21 - 0,29							10%							17%	33%			
	≧0,3					10%									17%	17%			
7	≦0,2	n = 14			7%	36%		7%			n = 10								
	0,21 - 0,29					36%									50%		10%		
	≧0,3							7%	7%								10%	20%	10%
11	≦0,2	n = 5			20%		40%				n = 8								
	0,21 - 0,29					20%								13%	25%	38%	13%		
	≧0,3				20%											13%			

Anzahl der Keime pro Gramm Nierengewebe in Korrelation zum Milzgewicht
prozentuale Verteilung der Mäuse

läßt; die Vergleichsgruppe 2 (Coli) tendiert eher zu mäßig hohen bis hohen Keimzahlen bei "normaler" Milz.

4.93 Korrelation zum Lungenbefund (Score)

Ich habe bereits gezeigt, daß ein ausgesprochen niedriges Milzgewicht durch die Influenzainfektion hervorgerufen wird. Die Mehrzahl der Milzen der WSN-infizierten Tiere ist am 4.Tag klein, obwohl von den Lungenläsionen makroskopisch noch nicht viel zu sehen ist.
Am 7.Tag wird erkennbar, daß offenbar kein wesentlicher Einfluß durch das Östradiol auf die Virus-Infektion stattfindet: Gruppe 3 und 4 gleichen sich stark. Die Doppelinfektionsgruppe zeigt eine bunte Verteilung über alle Möglichkeiten der Reaktion. Daß die Tiere mit Score 5, d.h. diejenigen, die mit vollständig hämorrhagischen Lungen gestorben sind, alle sehr kleine Milzen hatten, verwundert nicht.
Die Ergebnisse des 11.Tages sagen nichts aus, weil die Anzahl der verwertbaren Tiere zu klein ist.

5. Diskussion

5.1 Zur Frage des Östradioleinflusses und der Auswirkung der Methode

Bei der Gruppe 5 (Ö-Leerkatheter-PBS) und bei der Gruppe 3 (Ö-Leerkatheter-WSN) ließen sich insgesamt bei 4 von 20 Tieren Bakterien aus dem Urin züchten, das heißt, es scheint zumindest vorübergehend ein Harnwegsinfekt bestanden zu haben. Es ist stark anzunehmen, daß diese Keime durch das Katheterisieren in die Blase gelangt sind, jedoch war bei keiner dieser Mäuse eine Niereninfektion nachweisbar. Es ist möglich, daß dies Erreger waren, gegen die die Mäuse bereits resistent gewesen sind. Andererseits ist ebenso wahrscheinlich, daß diese Infektionen nicht massiv genug waren, um bis zu den Nieren der Tiere vorzudringen. Die in der Untersuchung von Commichau et al. (1972) beschriebene allgemeine Schwächung der Infektabwehr durch Östrogen und die Resistenzminderung durch diskrete Weitstellung des Pyelons und proximalen Ureters scheint nur bei massiver Infektion zur Geltung zu kommen.

Bei der Gruppe 3 (Östradiol-WSN) starben 26% (5 von 19) der Tiere, bei der Gruppe 4 (WSN) 22% (4 von 18). Auch die an den Lungen erhobenen Befunde (Score) der beiden Gruppen unterschieden sich nicht. Daraus läßt sich entnehmen, daß, wie erwartet, der hohe Östradiolspiegel der Mäuse keinen mit diesen Methoden erkennbaren Einfluß auf die Virus-Pneumonie hatte.

5.2 Hat die Doppelinfektion die Sterberate erhöht ?

Vergleicht man die Gruppen 1 (Coli-WSN) und 2 (Coli) miteinander, so stehen 33% (11 von 33) Tote 100% (n=24) Überlebenden gegenüber. Das heißt, die Sterberate schnellte beim Hinzutreten der Virusinfektion von 0% auf 33% in die

Höhe. Stellt man jedoch die Gruppe 3 (Östradiol-WSN) zum Vergleich daneben, so zählt man hier 26% (5 von 19) Tote. Die 33% gestorbenen Tiere der Gruppe 1 und die 26% der Gruppe 3 ergeben statistisch geschen keinen Unterschied. In bezug auf die Sterberate kann man also nicht von einer "Addition" der beiden Infektionen sprechen.

5.3 Korreliert die Bakterienzahl im Urin mit dem Grad der Pyelonephritis ?

Obwohl man feststellen kann, daß mit steigender Bakterienzahl im Urin auch die Wahrscheinlichkeit der Infektion der Niere steigt, traten doch Extreme auf, die die Annahme nahelegen, daß die Zahl der Bakterien pro ml Urin bei einer aufsteigenden Pyelonephritis nicht unbedingt mit der Zahl der Bakterien pro Gramm Niere korreliert (z.B. bei einer im Urinbefund dreimal negativen Maus 10^5 Keime pro Gramm Niere, und bei einem Tier mit weit mehr als 10^5 Keimen pro ml Urin nur 10^3 Keime pro Gramm Niere).

5.4 Zur Entwicklung der E.coli-Infektion

Als am 4. Tag nach der WSN-Infektion die ersten Mäuse getötet wurden, hatte die E.coli-Infektion 18 Tage Zeit gehabt, sich zu etablieren, und die Maus, ihre Abwehrkräfte dagegen zu mobilisieren. Als Reaktion auf eine schleichende chronische Infektion findet man eine teils sehr starke Vergrößerung der Milz (Hamperl 1974). Die primäre Immunantwort auf Antigenstimulation in der Milz von Mäusen beschreibt Nelson (1969) wie folgt: zunächst entstehen in der roten Pulpa Immunoblasten, die beginnen, sich zu Plasmazellen zu entwickeln. Die Zahl der Antikörper bildenden Zellen erreicht 4-5 Tage nach Antigenstimulation Spitzenwerte. Als letztes beobachtet man die Bildung von Germinalzentren in den Primärfollikeln. Das Bild der

sekundären Immunantwort wird bei humoraler Abwehrreaktion von zahlreichen Plasmazellen bestimmt. Schlewinski und Mitarbeiter (1973) berichten aus ihren Versuchen über ähnliche Zeitabstände. Sie verabreichten hitzeinaktivierte Dyspepsie-coli intravenös und bestimmten die Anzahl der Antikörper bildenden Zellen auf zwei Wegen: Im Bakteriolyse-Plattentest und nach der Agar-Plaque-Technik nach Jerne mit sensibilisierten Erythrozyten. Das Maximum der Antikörper bildenden Zellen fand sich nach 3 Tagen, und nach 19 Tagen war die Zellzahl noch deutlich erhöht. In dieser späten Phase der Immunantwort zeigte sich auch eine stärkere Bakteriolyse als zu Anfang.
Die Mäuse der Gruppe 2 (Coli) zeigten jedoch nach 18 Tagen nur in 2 von 6 Fällen eine Erhöhung des Milzgewichts über 0,3 g, nach 21 Tagen (also am 7.Tag nach der WSN-Infektion der anderen Gruppen) wiesen 4 der 5 Mäuse mit makroskopischen Nierenabszessen große Milzen auf, die Milzen der anderen 6 Tiere waren mit einem Mittelwert von 0,27 g (gegenüber 0,24 g) nur gering vergrößert. Nach 25 Tagen herrschte dasselbe Bild. Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß es nicht zu einer massiven Antigeneinschwemmung in die Blutbahn der Mäuse gekommen ist. Offenbar werden selbst ausgedehnte Abszesse gut abgekapselt. Es ist also auch nicht zu erwarten, daß E.coli-Bakterien in großer Anzahl ihren Weg in die Lungen der gleichzeitig an Pneumonie erkrankten Mäuse der anderen Gruppen gefunden haben.

5.5 Läßt sich eine Aussage über den Grad der WSN-Infektionen machen ?

Da ich keine Titerbestimmungen aus den Mäuselungen gemacht habe, besitze ich keine Angaben über den Grad der Virusinfektion. Es läßt sich also nicht sagen, inwieweit der pathologische Befund der Lungen (Score) ein Maß für die

WSN-Infektion darstellt. Degré und Solberg (1971) berichten von einem Nicht-Korrelieren des pathologischen Befundes mit den Virustitern, hingegen gab es in ihren Versuchen Beziehungen zwischen dem bakteriellen Titer (H.influenzae) und dem Ausmaß der entzündlichen Veränderungen der Mäuselungen.

Eine der wesentlichsten Reaktionen der Maus auf die Influenza-Pneumonie äußert sich in dem Absinken des Milzgewichts. Alle mit WSN infizierten Gruppen wiesen in der Mehrzahl der Tiere extrem kleine Milzen auf.

Ferner fiel auf, daß sich das Befinden der Tiere 5 Tage nach der WSN-Infektion zusehens verschlechterte und der Spontantod am häufigsten am 7. oder 8.Tag p.i. eintrat.

Müller (1963) berichtet von Versuchen im Rahmen von Untersuchungen über den plötzlichen Kindstod. Mäuse im Alter von 1-6o Tagen wurden intracerebral mit Influenza-A-Viren (Stamm FM 1) infiziert, in verschiedenen Zeitabständen getötet und unter anderem das lymphatische System untersucht. Tiere, die 2o Tage und älter waren, zeigten nach 6 Stunden die ersten Anzeichen von Veränderungen, besonders des Milzgewebes, die in ihrer vollständigen Ausprägung "toxische Alteration" genannt wurden: Nekrosen der Follikelzentren, massenhaft Leukozytentrümmer und leere Zentren. 48 Stunden p.i. bestanden wieder solide Follikel. Da diese "toxische Alteration" ausblieb, wenn die Mäuse 1o Stunden vor der Infektion adrenalektomiert worden waren, deutet sie der Autor als "Streßreaktion" auf die Virusinfektion. Er betont ausdrücklich, daß die Applikationsart keinen Einfluß auf diesen Effekt hat.

Es ist unwahrscheinlich, daß dieser Effekt in meinen Versuchen ausblieb. So liegt die Annahme nahe, daß die akute Verschlechterung des Befindens der Mäuse am 5. Tag nach der WSN-Infektion durch den Vorgang der "toxischen Alteration" bedingt wurde, und daß auch das Absinken des

Milzgewichts damit im Zusammenhang steht. Die veränderten Zeitspannen sind wohl durch den Applikationsweg bedingt. Ob Milzgewicht und Grad der Virusinfektion jedoch korrelieren, ist nicht bekannt.
Es ist also weder vom pathologischen Befund (Score), noch vom Gewicht der Milzen her etwas auszusagen über die Virusinfektion. Diese beiden Zahlenwerte treffen sich mit Sicherheit nur an einem Punkt: Spontan gestorbene Tiere mit Score 5 haben extrem kleine Milzen.

5.6 Zur Chance des Zusammentreffens von Viren und Bakterien

In der Humanmedizin kennt man bei einer Influenzainfektion den Gewebstropismus der Viren zum Atemwegsepithel, Epithelnekrosen, Gefäßschäden mit Hämorrhagien, Lymphopenie und Leukopenie (Heilmeyer 1971). Mulder und Hers (1972) beschrieben eingehend das histologische Bild: Vakuolenbildung und Abflachung des Atemwegepithels, Lymphozyten und Plasmazellen in der Tunica propria und der Submucosa und eine gewellte, aber ihrer Meinung nach nicht zerstörte Basalmembran. Bei einer Pneumonie finden sich in Alveolen und Bronchioli zerstörte Zellen und Makrophagen, die eine starke Tendenz zur Phagocytose zeigen. Wo das Alveolarepithel fehlte, wiesen sie spezifische Fluoreszenz an der Oberfläche der Basalmembran nach. Weiter fanden sich Kapillarthrombosen, fokale Nekrosen der Alveolarwand und "hyaline"Membranen. Im Gegensatz dazu sahen sie bei ihren Mäuseversuchen keine "hyalinenen" Membranen und Thrombosen, sondern ein seröses Exsudat in den Alveolen und Blutungen.
In Anbetracht dieser histologischen Schäden ist zu vermuten, daß auch Influenza-Viren in größerer Anzahl über die Blutbahn in die Mäusenieren gelangt sind.

5.7 Zum Versuchsergebnis bei der Doppelinfektionsgruppe

5.71 Lokale Depression der Resistenz in den Lungen

Die Sterberate ist durch die Doppelinfektion nicht signifikant gestiegen. Die Milzgewichte der Gruppen 1 (Ö-Coli-WSN) und 3 (Ö-WSN) verhalten sich im zeitlichen Ablauf annähernd gleich. Bei der Gruppe 1 (Ö-Coli-WSN) waren am 7. Tag nach der WSN-Infektion bei 7 von 14 Tieren die Milzen höchstens 0,2g, bei der Gruppe 3 (Ö-WSN) bei 7 von 11 Tieren.
Die von Müller (1963) beschriebene "Streßreaktion" (siehe oben), also die Wirkung der Influenza-A-Infektion auf das lymphatische System, scheint in den beiden Gruppen im wesentlichen gleich zu sein.

Dieses Ergebnis spricht für die Theorie (Gerone et al. 1957, Sellers et al. 1961, Mulder und Hers 1972), daß bei pulmonaler Superinfektion eine lokale Depression der Resistenz durch Epithelschäden verursacht wird.

5.72 Bahnung der Pyelonephritis durch die Influenzapneumonie ?

Die Nierenabszesse der Doppelinfektionsgruppe waren kleiner als die der nur-coli-infizierten Mäuse. Die Keimzahlen im Urin lagen bei der Gruppe 1 (Coli-WSN) mit Sicherheit nicht höher als bei der Gruppe 2 (Coli).

Der Anteil der Tiere der Gruppe 2 (Coli), die am 7. und am 11.Tag nach der WSN-Infektion der anderen Gruppen getötet wurden und zu diesem Zeitpunkt pro Gramm Niere Keimzahlen von 10^4 und mehr aufwiesen, lag bei 55% (10 von 18). Die Mäuse der Doppelinfektionsgruppe, die mit vollständig hämorrhagisch veränderten Lungen gestorben waren, die also eine schwere Virus-Pneumonie durchmachten, wiesen jedoch nur in 2 von 11 Fällen (=18%) solche Zahlen auf.
Rechnet man ohne Berücksichtigung des Lungenbefundes alle Tiere der Gruppe 1 (Coli-WSN) zusammen, so erreichten 25% (6 von 24) hohe (=10^4) Keimzahlen pro Gramm Niere.

Das Gegenteil, nämlich niedrige (10^2) Keimzahlen pro Gramm Niere, findet sich bei der Gruppe 2 (Coli) nur in einem von 18 Fällen (=5,5%), bei 27% (3 von 11) der spontan gestorbenen Mäuse der Gruppe 1 und bei 16% (4 von 24) der gesamten Tiere der Gruppe 1 (Coli-WSN).

Hieraus läßt sich vermuten, daß die Influenza-Infektion einen Einfluß auf die Pyelonephritis hat, welcher Art er ist, muß offen bleiben.
Hieraus läßt sich ferner feststellen, daß eine "Bahnung" der Pyelonephritis nicht gefunden wurde, obwohl man angesichts der histologischen Schäden in den Atemwegen und der Lunge (Mulder und Hers 1972) annehmen kann, daß die Viren auch in die Nieren gelangt sind. Dies bestätigt die anfangs erwähnten Ergebnisse von Olbing et al. (1973) und Smith (1971).

5.73 Einfluß auf Makrophagen ?

Eine Beeinflussung der Pyelonephritis durch die Influenza-Infektion auf direktem Weg, etwa durch histologische Schäden am Nierengewebe, wurde nicht gefunden. Gäbe es die Möglichkeit der Einflußnahme über die Abwehrreaktionen der Maus ?

In neuerer Literatur über die Abwehrreaktionen eines Organismus wird die ursprünglich strenge Trennung zwischen humoraler und zellulärer Abwehr nicht mehr beibehalten. Virelizier et al. (1974) wiesen nach, daß auch Mäuse ohne Thymus Antikörper gegen Influenzahämagglutinin bildeten, und daß T-Lymphozyten die Produktion von Antihämagglutinin durch Einwirkung auf B-memory-cells regulieren. In dem 1975 erschienen Artikel von Virelizier wird die Ansicht vertreten, daß zelluläre und humorale Abwehr bei einer Influenzainfektion Hand in Hand arbeiten.

Ein wichtiges Glied in der Kette der Abwehrreaktionen gegen virale sowie bakterielle Infektionen stellen die Makrophagen dar. Es ist bekannt, daß die Phagocytose durch Influenza-Viren gehemmt wird (Wilson et al 1947). Mulder und Hers (1972) jedoch beschrieben in dem histologischen Bild einer Influenza-Pneumonie Makrophagen in den Alveolen, die eine starke Tendenz zur Phagocytose zeigten. Auch Inglot (1962) fand bei Versuchen zur Rolle der Leukozyten bei einer Influenza-Infektion fluoreszenzmikroskopisch reichlich intrazellulär liegende Viren und Gamma-Globulin.
Außerdem wird beschrieben (Nelson 1969 und Humphrey 1971), daß die Phagocytose durch Östrogen und durch Endotoxin gram negativer Bakterien, - beides ist in meinen Versuchen bereits vor der Influenza-Injektion reichlich vorhanden, - stimuliert werden kann.

In den Technical Report Series der WHO (1973) wird berichtet, daß Peritonealmakrophagen von Tieren, die mit intrazellulären Organismen infiziert sind, eine nicht-spezifisch gesteigerte, mikrobentötende Aktivität entwickeln.
Man könnte sich vorstellen, daß das Ergebnis der hier beschriebenen Versuche durch eine solche Steigerung der Aktivität der Makrophagen, sei es durch Aufhebung der Hemmung der Phagocytose, durch erhöhte intrazelluläre Verdauungspotenz oder durch beides zugleich, zustande kommt.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Frage nachgegangen, ob eine Influenza-Virus-Pneumonie eine chronische, aszendierende, hormongebahnte Pyelonephritis, verursacht durch E.coli, beeinflußt.
Dazu wurden 8-1o Wochen alte, gesunde, weiße, weibliche Mäuse (Stamm NMRI) mit hohen Östradioldosen vorbehandelt, (80 µg/Woche i.m.), zweimal im Abstand von einer Woche transurethral mit E.coli (Stamm U 714/68) infiziert, die Keimzahl im Urin kontrolliert und schließlich 2 Wochen nach der 2. Coli-Infektion einer Influenza-Pneumonie (Stamm A/WSN/34 HO N1) ausgesetzt. Die in unterschiedlichen Zeitabständen von der Virusinfektion getöteten Tiere wurden seziert, Nieren und Milzen herauspräpariert und gewogen, die Pneumonie nach der Ausdehnung der makroskopisch sichtbaren Veränderungen (Score) beurteilt, die Blase punktiert und die Keimzahl pro ml Urin und pro g Niere nach der semiquantitativen Kreuzstrichmethode bestimmt. Zur Identifikation der gezüchteten Bakterien erfolgten auf Kligler- und Lactose-Fuchsin-Nährböden Kontrollen und zum Schluß ein Resistenztest.

Im Gegensatz zu dem bekannten Ansteigen der Sterberate bei einer pulmonalen, bakteriellen Superinfektion einer Influenza-Pneumonie fand sich hier kein signifikanter Unterschied zwischen der Anzahl der spontan gestorbenen Tiere bei der bakteriel-viralen Doppelinfektion und bei der reinen Virusinfektion. Dieses Ergebnis spricht für die Theorie, daß die lokale Minderung der Resistenz der Lungen der alleinige Grund für die Sterberate bei bakterieller Superinfektion einer Influenza-Pneumonie ist..
Die Nierenabszesse der Doppelinfektionsgruppe waren in ihrer Ausdehnung kleiner, die Keimzahlen in Urin und Nierengewebe waren nicht höher als die der nur-coli-infizierten Tiere. Eine "Bahnung" der Pyelonephritis durch

die Influenza-Infektion könnte analog zu den Untersuchungen von Olbing et al. (1973) und Smith (1971) nicht gefunden werden.

7. Literaturverzeichnis

Babiker, H.A. und R. Rott: Biologische Eigenschaften des Virus N 1.Mitteilung: Plaquetest für das Virus N in Hühnernierenzellen.
Zbl.Vet.Med.15b , 351-356 (1968)

Blum, H.: Ein Modell der nicht-obstruktiven, hormongebahnten, aszendierenden E.-coli-Pyelonephritis bei der Maus.
Inaugural-Diss. Tübingen 1976

Burch, G.E., K.C. Chu, H.L. Colcolaugh, and R.S. Sobol: Immunfluorescent localisation of Coxsackie virus antigen in the Kidney, observed in routine autopsy.
Amer. J. Med. 47 , 36-42 (1969)

Commichau, W., H.G. Henkel und K. Sack: Humoral gebahnte, nicht-obstruktive Coli-Pyelonephritis
IN: Pyelonephritis Band 3 Hersg.H.Losse, M. Kienitz, Stuttgart: Thieme 1972.

Degré, M., and L.A. Solberg: Synergistic effect in viral-bacterial infection: 3. Histopathological changes in the trachea of mice following viral and bacterial infection.
Acta Path. Micobiol. Scand. Sect.B 79. 129-136 (1971)

Gerone, P.J., T.G. Ward, and W.A. Chapell: Combined infections in mice with influenza virus and Diplococcus pneumoniae.
Amer. J. Hyg. 66 , 331-341 (1957)

Ginder D.R.: Increased suspectibility of mice infected with mouse adeno-virus to Escherichia coli-induced pyelonephritis.
J.Exp. Med. 120 , 1117-1128 (1964)

Gresser, I., and S.L. Katz: Isolation of measles virus from urine.
New England J. Med. 263 , 452-459 (1960)

Hamperl, H.: Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie 29.Auflage. 378-383
Berlin: Springer 1974

Heilmeyer, L.: Innere Medizin Band 1, 3.Auflage. 26-43
Berlin: Springer 1971

Hirsch, H.A.: Diagnostische Probleme und Bedeutung der sogenannten asymptomatischen Bakteriurie.
In: Pyelonephritis, 136-147
Hersg.: H. Losse und M. Kienitz
Stuttgart: Thieme 1967

Humphrey, J.H., and R.G. White: Kurzes Lehrbuch der Immunologie, 75-83
Stuttgart: Thieme 1971

Inglot, A., and F.M. Davenport: Studies on the role of leukocytes in infection with influenza virus
J. Immunol. Vol.88, No. 1, 55-65 (1962)

Lüders, D.: Bakteriologische Diagnostik
In: Pyelonephritis, 97-112
Hersg. H.Losse und M. Kienitz
Stuttgart: Thieme 1966

Müller, G.: Der plötzliche Kindstod
Stuttgart: Thieme 1963

Mulder, J., and J.F.Ph. Hers: Influenza
Groningen: Wolters-Noordhoff Publishing 1972

Nelson, D.S.: Macrophages and immunity
Amsterdam: North-Holland Publishing Company 1969

Olbing, H., E. Kuwert, P.G. Höher, H.G. Bohlmann, H. Struck und H. Kaufmann: Zur Frage der Vorkrankheiten bei Harnwegsinfektionen: Virusserologische Untersuchungen.
Zeitschrift für Klinik und Therapie der Infektionen, 1. Jahrgang, Vol.1 Nr. 2, 71-76 (1973)

Schlewinski, E., I.Lubner, and H. Raettig: Immunreaction in spleen and Peyer's patches after intravenous application of E.Coli-antigen in comparison of the agar plaque technique with the bacteriolytic plaque assay in agar
Zbl. Bakt. (Orig.A) 225, 316-322 (1973)

Sellers, T.F., J. Schulman, C. Bouvier, R. McCune, and E.D. Kilbourne: The influence of influenza virus infection on exogenous staphylococcal and endogenous murine bacterial infection of the bronchopulmonary tissues of mice.
J.Exp. Med. 114, 237-256 (1961)

Smith, R.D., and J. Aquino, M.D.: Viruses and the kidney.
Medical clinics of North America No.55, 89-106 (1971)

Utz, J.P., V.M Houk, and D.W. Alling: Clinical and laboratory studies of mumps. 4. Viruria and abnormal renal function.
New England J. Med. 270, 1283-1286 (1964)

Virelizier, J.L.: Host defenses against influenza virus: The role of antihaemagglutinin antibody.
J.Immunol. 115(2), 434-439 (1975)

Virelizier, J.L., R. Postlethwaite, G.C. Schild, and A.C. Allison: Antibody responses to antigenic determinants of influenza virus haemagglutinin. 1. Thymus dependence of antibody formation and thymus independence of immunological memory. J.Exp. Med. 140, 1559-1570 (1974)

Virelizier, J.L., A.C. Allison, and G.C. Schild: Antibody responses to antigenic determinants of influenza virus haemagglutinin. 2. Original antigenic sin: a bone marrow-derived memory-phenomenon modulated bei thymus-derived lymphocytes. J.Exp. Med. 140, 1571-1578 (1974)

WHO: Cell-mediates immunity and resistance of infection. Report of a WHO sientific group WHO Technical Report Series No.519, 1-64 (1973)

Wilson, H.E., S. Saslaw, C.A. Woolpert, O.C. and J.L. Schwab: Reactions of monkeys to experimental mixed influenza and staphylococcus infections. J.Exp. Med. 85, 199-215 (1947)

Lebenslauf

Am 30. 7. 1950 wurde ich, Ehrtraut Gisela Kilgus, als Tochter des Werkzeugmachers Julius Kilgus und seiner Ehefrau Ehrtraut, geb. Staschek, in Schramberg, Kreis Rottweil, geboren.

Von 1957 bis 1960 besuchte ich die Grundschule in Schrambergs Bergvorstadt Sulgen, ab 1961 dann das Gymnasium in Schramberg. 1969 bestand ich das Abitur und begann im Sommersemester 1970 mit dem Studium der Medizin in Tübingen. Nach zwei Semestern legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab, nach fünf Semestern die ärztliche Vorprüfung. Am 23. 12. 1975 bestand ich das medizinische Staatsexamen.

Die Medizinalassistentenzeit verbrachte ich an der Diakonissenanstalt in Flensburg und am Kreiskrankenhaus in Husum auf chirurgischen und internistischen Abteilungen. Am 14. 7. 1977 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Zur Zeit arbeite ich als Assistenzärztin auf der internistischen Abteilung des Kreiskrankenhauses in Husum.